

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

06.09.2004

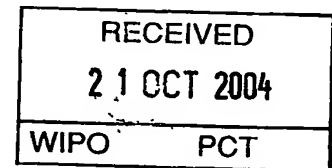
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2 0 0 3 年 1 0 月 1 0 日

出 願 番 号  
Application Number: 特 願 2 0 0 3 - 3 5 2 6 6 6

[ST. 10/C]: [ J P 2 0 0 3 - 3 5 2 6 6 6 ]



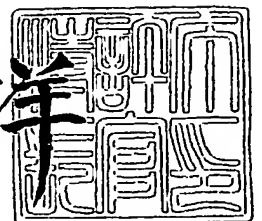
出 願 人  
Applicant(s): 独立行政法人 科学技術振興機構

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 1 0 月 8 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川 洋



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願  
【整理番号】 200310029  
【特記事項】 特許法第 3 0 条第 1 項の規定の適用を受けようとする特許出願  
【提出日】 平成15年10月10日  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 C08L 55/00  
A61K 9/51

【発明者】  
    【住所又は居所】 茨城県守谷市けやき台 3 - 5 - 1 7  
    【氏名】 長崎 幸夫

【発明者】  
    【住所又は居所】 東京都中野区上鷺宮 5 - 1 7 - 2 2  
    【氏名】 片岡 一則

【発明者】  
    【住所又は居所】 石川県金沢市若松町 9 6 街区 4 - 1  
    【氏名】 小高 亮輔

【特許出願人】  
    【識別番号】 503360115  
    【氏名又は名称】 独立行政法人科学技術振興機構

【代理人】  
    【識別番号】 100060782  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 小田島 平吉

【選任した代理人】  
    【識別番号】 100094293  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 藤井 幸喜

【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 019666  
    【納付金額】 21,000円

【その他】 同日付で新規性の喪失の例外証明書提出書を提出しています。

【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 要約書 1

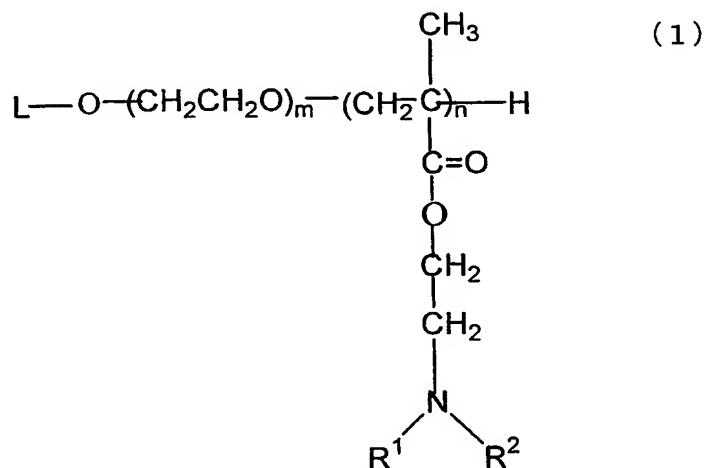
【書類名】特許請求の範囲

【請求項 1】

一般式 (1)

フラーレン $C_{60}$ を内包したポリマーをベースとする微小粒子の複合体であって、微小粒子が、一般式 (1) :

【化 1】



(式中、非結合末端が反応性官能基により置換されているかまたは未置換の $C_{1-12}$ アルキル基を表し、 $R^1$  および  $R^2$  は、相互に独立して $C_{1-6}$  のアルキル基を表し、 $m$  は 10~20, 000 であり、そして  $n$  は 1~10, 000 である。) で表されるブロックポリマーから形成され、ポリエチレングリコールのポリマー鎖セグメントをコア部とし、ポリ (メタクリル酸アルキルアミノエチル) のポリマー鎖セグメントをシェル部とする、ことを特徴とする複合体。

**【書類名】明細書****【発明の名称】炭素化合物を内包する微小粒子の複合体****【技術分野】****【0001】**

本発明は、 $C_{60}$ を内包し、そしてブロックコポリマーをベースとする微小粒子の複合体に関する。

**【背景技術】****【0002】**

フラーレン $C_{60}$ は、それらの新奇な構造のため、多岐にわたる技術分野、例えば、医薬、体内診断、化粧品、等での使用が期待されている。

**【0003】**

しかし、特に、これらの技術分野で使用するには、フラーレンが水に不溶性であるため一定の制限があった。したがって、フラーレンを可溶化するためにフラーレンの炭素原子にヒドロキシル基を導入した各種フラロールの提供（特許文献1参照。）や、例えば、金属内包フラーレンまたはその塩の表面をスルホン基、ケトン基、アミノ基およびアルキル基からなる群より選ばれる官能基を有する多糖類で被覆したものも提供されている（特許文献2参照。）。

**【特許文献1】**特開平7-048302号公報

**【特許文献2】**特開平8-143478号公報

**【発明の開示】****【発明が解決しようとする課題】****【0004】**

本発明の目的は、フラーレンの可溶化が達成された新たな組成物または複合体を提供することにある。

**【課題を解決するための手段】****【0005】**

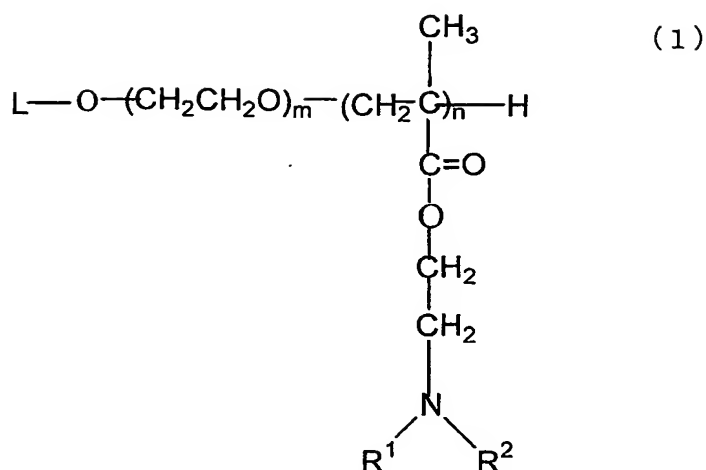
本発明者らの一部は、DNA等の生体内標的への有力な送達手段として、DNAとポリエチレングリコール-b l o c k-ポリ（2-（N,N-ジメチルアミノ）エチルメタクリレート）のポリマーミセル複合体を提供した（K. Kataoka et al., Macromolecules 1999, 32, 6892-6894参照）。しかし、意外にも、本発明者らは、かかるブロックコポリマーは、水不溶性であり、しかも炭素原子から本質的になるフラーレン $C_{60}$ とも複合体を形成し、それらを可溶化しうることを、ここに見出した。

**【0006】**

したがって、本発明によれば、フラーレン $C_{60}$ を内包したポリマーをベースとする微小粒子の複合体であって、微小粒子が、一般式（1）：

**【0007】**

## 【化1】



## 【0008】

(式中、非結合末端が反応性官能基により置換されているかまたは未置換の $\text{C}_1 - 1$ アルキル基を表し、 $\text{R}^1$  および  $\text{R}^2$  は、相互に独立して $\text{C}_1 - 6$  のアルキル基を表し、 $m$  は10～20, 000であり、そして $n$  は1～10, 000である。) で表されるブロックコポリマーから形成され、ポリエチレングリコールのポリマー鎖セグメントをコア部とし、ポリ(メタクリル酸アルキルアミノエチル)のポリマー鎖セグメントをシェル部とする、ことを特徴とする複合体が提供される。

## 【0009】

微小粒子が三級アミノ基または二級アミノ基を担持した反復単位を含有するポリマー鎖セグメントをコアとし、そして非イオン性の親水性ポリマー鎖セグメントをシェルとする構造物を形成できるブロックコポリマーに由来することを特徴とする微小粒子の複合体が提供される。

## 【発明の効果】

## 【0010】

本発明に従う、フラーレンを内包する微小粒子の複合体は、調製後に凍結乾燥した場合であっても、極めて容易に水中に分散もしくは溶解して透明で、かつ安定な溶液を形成しうる。

## 【0011】

以下、本発明をより具体的に記述する。

## 【0012】

本発明にいう、「フラーレン $\text{C}_{60}$ 」とは、当該技術分野で周知の60の炭素原子からなる閉殻(またはかご形)構造を有する化合物である。また、本発明では、フラーレン $\text{C}_{60}$ の他に、フラーレン $\text{C}_{50}$ 、 $\text{C}_{70}$ および/または $\text{C}_{76}$ 等が10%程度まで含まれていても本発明の範囲に包含されるものと理解されねばならない。

## 【0013】

このような、フラーレン $\text{C}_{60}$ を上記一般式(1)で表されるブロックコポリマーで形成される微小粒子に封入するには、フラーレン $\text{C}_{60}$ とブロックコポリマーの両者を、それらを溶解しうる溶媒、例えば、塩化メチレン等に溶解した後、溶媒を留去し、次いで残留物を水に徐々に溶解していくか、または後述する実施例に記載する方法によればよい。

## 【0014】

こうして形成される微小粒子の複合体は、通常、ブロックコポリマー対炭素化合物を、重量比で、10000:1、好ましくは100:1の割合で含む。かような微小粒子の複合体は、水中で安定かつ透明な分散液または溶液を形成しうる。

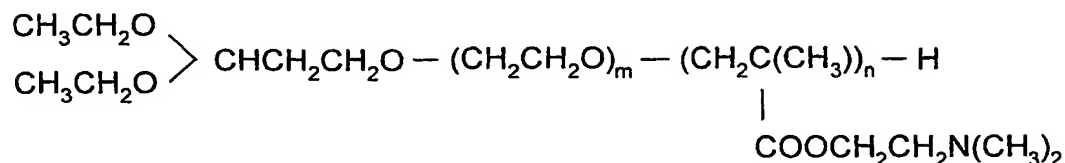
## 【0015】

以下、具体例を参照しながら本発明をさらに具体的に説明するが、本発明をこれらに限定することを意図するものでない。

<ブロックコポリマーの製造例>

## 【0016】

## 【化2】



アセタール-PEG/PAMAの構造式

## 【0017】

アルゴン下200mLナスフラスコに溶媒として蒸留テトラヒドロフラン (THF) 50mLを入れ、開始剤として3,3'-ジエトキシー-1-プロパノール (Mw=148、d=0.941) を157μL入れた。その後、カリウムナフタレン (K-Naph (c=0.3656mol/L)) を2.73mL入れメタル化した。次にエチレンオキシド (EO (Mw=44、d=0.88)) 5.68mLを入れた後水冷下で2日間撹拌した。2日後、少量をサンプリングし、GPCで解析を行った後、2-(N,N-ジメチルアミノ)エチルメタクリレート (PAMA; MW=157.21) を4.29mL入れ、水冷下で30分撹拌し、GPCでサンプリングを行った。最後にメタノールで反応を停止させた。

## 【0018】

反応停止後、イソプロピルアルコール再沈、遠心分離を行い、ベンゼン凍結乾燥をし、回収した。

## 【0019】

精製したポリマーの分子量はPEG/PAMA=4,500/5,500であった。

## 【実施例1】

## 【0020】

透析法による水中でのフラーレンの分散安定化

フラーレン：アセタール-PEG-PMAMAブロックコポリマーの混合比 (F:P) が1:0、1:0.5、1:1となるように溶媒ジメチルホルムアミド (DMF) 25mL中にフラーレン1mg、ブロックコポリマー13.8mgを加え (F:P=1:1の場合)、6時間超音波処理を行った後、一晚静置した。その後、蒸留水で一晚膨潤させた分画分子量12000-14000の透析膜中に溶液を入れ、透析を行った (水交換3回)。こうして得られた30mLのフラーレン内包微小粒子の溶液の溶媒を凍結乾燥により除去し、その後蒸留水5mL加え、再分散させた。その後、再度DLS測定を行った。

## 【0021】

こうして濃縮後の溶液にはフラーレン特有の黒褐色を呈した。ブロックコポリマー非存在下では濃縮によって濁度を生ずるものの、本発明に従う複合体では凍結乾燥後にも極めて容易に水中に分散溶解した。混合比がF:P=1:1、1:0.5のものを再度DLS測定を行って見たところ、濃縮再分散を行う前よりはフォトンカウントが増加したが、以前測定に十分なフォトンカウントは得ることができなかった。このようにこの条件で調製したフラーレン粒子は光散乱で検出できる粒径 (およそ3nm) 以下のほぼ分子状分散に近い形で分散している。

## 【実施例2】

## 【0022】

バブリング蒸発法による水中でのフラーレンの分散安定化

フラーレン1mgを塩化メチレン溶媒25mLに混ぜ、超音波をかけることで塩化メチレン中に溶解させた。その後、アセタール-PEG-PMAMAブロックコポリマー13

9 mg を溶媒に入れ、超音波を 2 時間かけた後、一晚静置した。

【0023】

このようにして調製した塩化メチレン溶液をアルゴンバブリングをしている蒸留水 40 mL に滴下していった。こうして調製した溶液は、実施例 1 に記載のものと同様に、淡黄色の透明溶液を与える微小粒子の複合体を提供した。得られた水中分散安定化フラーレン複合体の溶液の DLS 測定を行った結果、粒径 170 nm 程度のナノ粒子が形成されていることが確認できた。

【産業上の利用可能性】

【0024】

本発明に従う、フラーレン内包微小粒子複合体は、フラーレンを水可溶化しうるので、医薬、診断薬等の分野でのフラーレンの使用範囲を拡大できる。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 フラーレン $C_{60}$ の可溶化複合体の提供

【解決手段】 ポリエチレングリコール-*block*-ポリ（メタクリル酸アルキルアミノエチル）のブロックコポリマーの微小粒子中にフルーレン $C_{60}$ が内包された複合体。

【選択図】 なし



特願 2 0 0 3 - 3 5 2 6 6 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 5 0 3 3 6 0 1 1 5 ]

1. 変更年月日

2 0 0 3 年 1 0 月 1 日

[変更理由]

新規登録

住 所

埼玉県川口市本町 4 丁目 1 番 8 号

氏 名

独立行政法人 科学技術振興機構

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record.**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**